



Máster en Vitivinicultura en Climas Cálidos

Trabajo fin de Máster

**UTILIZACIÓN DE UVAS EN LA ELABORACIÓN DE MERMELADAS:  
ESTUDIO DE ESTABILIDAD DE COMPUESTOS FENÓLICOS**

Angel Olachea Arce

Diciembre 2012

**Miguel Palma Lovillo**

Profesor Titular

Departamento de Química Analítica

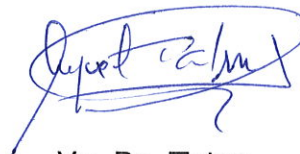
Universidad de Cádiz

TUTOR DEL TRABAJO FIN DE MÁSTER

**I N F O R M A:**

Que el trabajo de Fin de Máster titulado **"UTILIZACIÓN DE UVAS EN LA ELABORACIÓN DE MERMELADAS: ESTUDIO DE ESTABILIDAD DE COMPUESTOS FENÓLICOS"** elaborado por el Licenciado en Gastronomía D. Angel Olachea Arce, ha sido realizado bajo mi dirección y asesoramiento reuniendo, a mi juicio, los requisitos necesarios para su lectura y defensa.

Y para que conste, y en cumplimiento de las disposiciones vigentes, expido el presente Informe en Cádiz a doce de diciembre de dos mil doce.



Vo. Bo. Tutor  
Dr. Miguel Palma Lovillo

## ÍNDICE

|       |   |    |
|-------|---|----|
| 1     | Resumen .....   | 2  |
| 2     | Introducción .....  | 3  |
| 3     | Material y Métodos .....  | 8  |
| 3.1   | Elaboración de la mermeladas.....   | 8  |
| 3.2   | Determinación de Polifenoles Totales, Antocianos y Taninos.....                 | 8  |
| 4     | Resultados y Discusión .....  | 9  |
| 4.1   | Cambios en la composición fenólica durante la preparación de la mermelada ..... | 12 |
| 4.2   | Resultados del seguimiento de las mermeladas elaboradas .....                   | 14 |
| 4.2.1 | Seguimiento en Mermelada de Syrah.....  | 14 |
| 4.2.2 | Seguimiento en Mermelada de Tempranillo.....                                    | 17 |
| 4.2.3 | Seguimiento en Mermelada de Petit Verdot.....                                   | 20 |
| 4.2.4 | Seguimiento en Mermelada de Cabernet Sauvignon.....                             | 22 |
| 4.2.5 | Seguimiento en Mermelada de Tintilla de Rota .....                              | 24 |
| 5     | Conclusiones.....   | 26 |
| 6     | Bibliografía .....  | 28 |
| 7     | Proyecto de Tesis.....  | 31 |
| 7.1   | Objetivos de Tesis.....   | 31 |
| 7.2   | Antecedentes y estado actual del tema .....                                     | 32 |
| 7.3   | Hipótesis planteadas .....  | 40 |
| 7.4   | Plan de trabajo .....   | 41 |

## **1 Resumen**

Se recoge en la bibliografía consultada diversos trabajos dónde se ha comprobado la presencia de compuestos con actividad beneficiosa para la salud humana en los residuos y subproductos del cultivo de la uva y del proceso de vinificación, concretamente compuestos de tipo fenólicos, carbohidratos y restos proteicos.

Los restos de la vinificación representan un volumen importante de residuos/subproductos en el entorno enológico. En concreto, según estadísticas y datos del 2011, en España se han producido aproximadamente 600 millones de kg de orujo, que representan un 10-20% de la cosecha. Asimismo también se produjo un residual de aproximadamente unos 90 millones de kg de lías, que representan un 2-3% de la producción de mostos.

El incremento del valor de los subproductos o la puesta en valor de los residuos producidos, generaría una fuente de ingreso extra para las industrias del sector vitivinícola, además de una nueva vía de negocio para empresas del sector alimentario, por la preparación de nutracéuticos y nuevos alimentos funcionales.

En este trabajo, dentro de la búsqueda de nuevos usos para los residuos de la vinificación, se han elaborado 15 mermeladas de uva tinta, a partir de 5 variedades distintas: Syrah, Cabernet Sauvignon, Tintilla de Rota, Petit Verdot y Tempranillo, en distintos puntos de maduración cultivadas en la zona de Jerez. Se ha comparado, en primer lugar la cantidad de compuestos fenólicos que permanecen tras la elaboración de la mermelada, posteriormente la evolución del contenido en compuestos fenólicos totales, antocianos y taninos en todas las mermeladas durante un periodo de dos meses.

Esta investigación se centra, por tanto, en la utilización de los subproductos y residuos generados en el sector vitivinícola andaluz, con especial atención a los generados en la aplicación y desarrollo de nuevas técnicas vitivinícolas que se están empleando en el desarrollo de nuevos productos enológicos, caso de los cada vez más abundantes, vinos tintos andaluces.

## **2 Introducción**

Los alimentos funcionales y nutracéuticos han sido un medio para mejorar la salud general de los consumidores y prevenir la aparición de enfermedades. Actualmente, está recibiendo un amplio interés en términos de prevención de enfermedades crónico degenerativas, tales como las cardiovasculares y el cáncer [1,2].

Los alimentos funcionales se han convertido en una tendencia emergente en la investigación nutricional y la industria alimentaria, llegando a valores de negocio que superan los 100 000 millones de dólares en su conjunto (Fig. 1), siendo las bebidas funcionales las que presentan un mayor desarrollo, si bien tanto alimentos funcionales como suplementos alimenticios también contribuyen de una forma notable. Debido a que la demanda de alimentos funcionales dirigidos a determinadas enfermedades está aumentando rápidamente, hay un creciente interés por descubrir nuevos compuestos bioactivos con beneficios específicos para la salud, que puedan ser usados como ingredientes en la elaboración de alimentos funcionales.

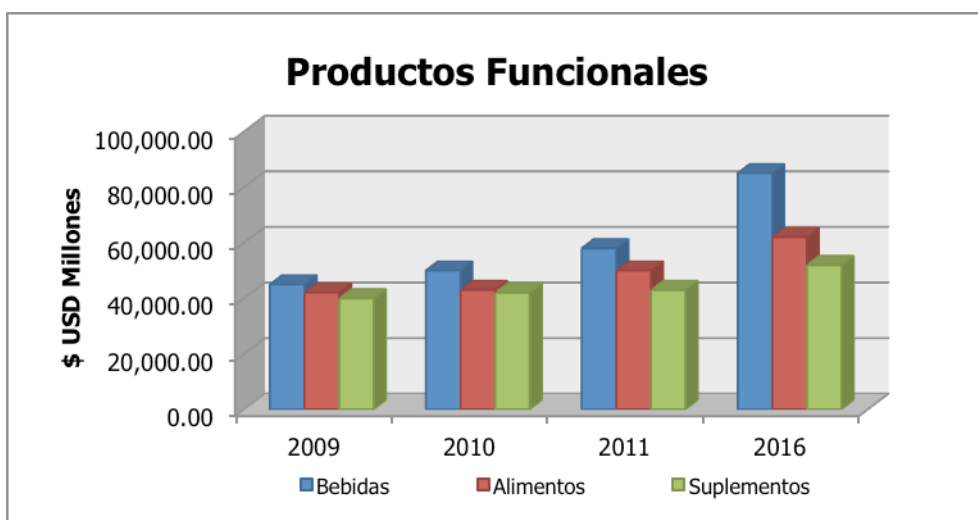


Fig. 1. Pronóstico según bccresearch.com, para las ventas de productos funcionales

Con el resurgimiento del interés de productos naturales, tales como los polifenoles, para la prevención de varias enfermedades cardiovasculares, incluyendo dislipidemia, hipertensión y cáncer, se está haciendo evidente que estos compuestos tienen efectos positivos en cuanto a la evolución de las enfermedades. La semilla de uva y vino tinto son conocidos por contener altos niveles de compuestos polifenólicos, y se le atribuyen efectos benéficos en la salud al consumo de estos compuestos [3,4].

Los compuestos polifenólicos son un conjunto heterogéneo de moléculas que comparten la característica de poseer en su estructura varios grupos bencénicos sustituidos por funciones hidroxílicas.

Los compuestos fenólicos de la uva incluyen, entre otros, a los ácidos fenólicos (cumárico, cinámico, cafeico, gentísico, ferúlico y vainillínico, además de toda una serie de compuestos similares en menores concentraciones) y flavonoides (catequinas, quercitina y resveratrol), los que son sintetizados por una vía metabólica común a partir de la fenilalanina.

Los polifenoles son importantes para la fisiología de las plantas pues contribuyen a la resistencia de microorganismos e insectos y ayudan a preservar su integridad, que puede verse afectada por su continua exposición a estresantes ambientales, incluyendo radiaciones ultravioletas y relativamente altas temperaturas.

En el ser humano, parte de la actividad biológica de los polifenoles se centra en su capacidad de reforzar el sistema antioxidante celular [5].

En alimentos y bebidas, estos compuestos se asocian con atributos sensoriales como el color, amargor, astringencia, algunos de estos aspectos son relevantes en productos como vino, té y uvas [6,7].

Frutas y productos derivados, tales como jugos, pulpas y mermeladas son algunas de las principales fuentes de polifenoles en la dieta [8]. Debido, justamente a su alto poder antioxidante, los polifenoles se presentan con alta inestabilidad a la luz y el oxígeno y por ello, es habitual que sufran transformaciones durante el procesamiento, almacenamiento y procesos de extracción.

Yilmaz y Toledo [9] han demostrado anteriormente que los flavonoides son abundantes en las semillas de uva y la piel, mostrando una capacidad antioxidante significativa. Por lo tanto, es razonable esperar que los productos derivados de uva, elaborados con la participación de hollejos y semillas, sean fuente natural de flavonoides en la dieta. Las antocianinas, flavanoles y procianidinas oligoméricas son los flavonoides presentes en cantidades significativas [10,11] y por ello deberían estar relacionados con estas propiedades.

El mercado de antioxidantes alimentarios naturales se ha visto ampliamente desarrollado durante la última década debido a dos aspectos fundamentales: el efecto preventivo de estos antioxidantes contra las enfermedades [12], y un rechazo general de los consumidores hacia los antioxidantes sintéticos [13], en muchos casos más potentes, pero sin duda con mayores efectos paralelos que los antioxidantes naturales.

El interés no sólo se limita a antioxidantes, sino que son numerosos los estudios realizados que han mostrado que el orujo de uva puede ser utilizado como fuente de fibra dietética para consumo humano, fundamentalmente debido a que el hollejo que se encuentra en el orujo presenta altos contenidos de esta fibra [14]. Si bien, han sido y son los antioxidantes los compuestos objetivo en la mayoría de los casos.

Este interés en los antioxidantes coincide con el creciente uso de los alimentos funcionales en nuestra dieta, en particular con la necesidad de la introducción en los mismos de compuestos bioactivos como los antioxidantes. Por ello, los productores de alimentos funcionales se ven en la necesidad de buscar nuevas fuentes de antioxidantes que, además, tengan una alta disponibilidad [15].

En el caso del vino en general, y en concreto el vino tinto, ciertamente contiene altas concentraciones de compuesto fenólicos (1000-1800 mg/L); sin embargo, esta es una mínima parte de los polifenoles de la uva, que en su mayoría permanecen en el orujo de la uva después de la elaboración del vino, sobre todo en hollejos (piel) y semillas [13].

El objetivo de este estudio ha sido el aprovechamiento de partes de la uva que no se utilizan o que resultan residuales en la elaboración del vino de forma que se les pueda dar otro uso como parte de un alimento alternativo que maximice el aprovechamiento de sus propiedades antioxidantes. Así, se ha desarrollado la producción a escala de laboratorio de 15 mermeladas procedentes de 5



variedades distintas de uva (Petit Verdot, Cabernet Sauvignon, Tintilla de Rota, Tempranillo y Syrah) en diferentes puntos de maduración. Se ha determinado su estabilidad en un tiempo de dos meses, en cuanto a composición química en polifenoles, abordando la presencia de polifenoles totales, antocianos y taninos. Las propiedades de estas nuevas elaboraciones han sido comparadas entre sí. Y se determinó asimismo la que presentó mejores características químicas y organolépticas para su comercialización.

El empleo de cinco variedades de uva se debe a que se ha intentado cubrir el mayor espectro posible de cultivos de uva tinta en la zona de Jerez, incluyendo tanto variedades autóctonas como foráneas, siempre entre de las de mayor cultivo en la zona. Por otro lado, se ha decidido utilizar muestras en distinto grado de maduración tras haber comprobado en experiencias previas, la intensa variación que registran los polifenoles durante el proceso de maduración. Si se tiene en cuenta la práctica cada vez más extendida de aclareo de racimos, encontrar compuestos de interés y utilidad a este tipo de uvas sería de especial interés, puesto que actualmente se desechan.

### **3 Material y Métodos**

#### **3.1 Elaboración de la mermeladas**

Para la elaboración de la mermelada de uva, se han utilizado 5 variedades de uvas: Tempranillo, Petit Verdot, Syrah, Cabernet Sauvignon y Tintilla de Rota, en distintos grados de maduración, procedente de la provincia de Cádiz. La uva se hizo pasar por una trituradora Vorwerk (Thermomix 31-3) a velocidad máxima, para asegurar la completa trituración de todos sus componentes.

Una vez obtenida una pasta homogénea de hollejos, semillas y pulpa, se separan 500 g de la misma, se le agregan 500 g de azúcar y 15 g de pectina. Posteriormente se calienta a 70 °C durante 15 minutos, para impedir el desarrollo de cualquier tipo de levadura, habitualmente presentes en la piel de la uva, y facilitar la disolución del azúcar y la pectina. Después se deja a temperatura ambiente hasta alcanzar una temperatura de 19-20 °C. La influencia de la preparación en la composición fenólica será el primer aspecto a evaluar dentro del trabajo que se plantea.

Una vez obtenidas las mermeladas, se dividen en recipientes de vidrio cerrados herméticamente, se remueve todo antes de cada división para que la mezcla sea uniforme. Se vierten aproximadamente 5 gramos de mermelada en cada frasco. En este experimento se analiza la evolución de los polifenoles en dos diferentes condiciones, una manteniendo la mermelada en el congelador a -32 °C (Muestras denominadas C) y otra en una nevera a 4 °C (Muestras denominadas N), a lo largo de un periodo de 2 meses.

#### **3.2 Determinación de Polifenoles Totales, Antocianos y Taninos**

Para la determinación de los polifenoles en la mermelada, se toma una porción de aproximadamente 1g del homogeneizado (pulpa, hollejos y pepitas), se coloca en un tubo de ensayo de 15 ml y se añaden 6 ml de la solución hidro-

alcohólica 50:50 (agua-etanol). La extracción se lleva a cabo con una sonda de ultrasonidos "Ultrashallprocesor UP200S" (ciclos: 0,5 s; Amplitud: 60). El tiempo de extracción es de 10 minutos [16]. A continuación se centrifuga la suspensión a 8000 rpm durante 10 min a 0 °C. Se retira el sobrenadante y el sólido se lava una vez más con 3 ml de la solución extractante. En experiencias previas se ha comprobado que la extracción de antocianos, taninos y polifenoles totales se puede considerar cuantitativa (>95% de recuperación) en estas condiciones. Los sobrenadantes se mezclan y se llevan a un volumen final de 10 ml. De dicho extracto se toman 0,2 ml, y se agregan 3,8 ml de HCl 1M. Pasada 1 hora se mide la absorbancia a 280, 420 y 520 nm frente a un blanco de HCl 1M, lo que permite estimar las concentraciones de antocianos totales, taninos y polifenoles totales, respectivamente.

Se emplea el ácido gálico para expresar la cantidad de polifenoles totales, la catequina para expresar la cantidad de taninos totales y el glucósido 3 de malvidina para expresar la cantidad total de antocianos. Las curvas de calibrado resultantes fueron ácido gálico:  $y = 0,0208x + 0,0128$ ,  $R^2 = 0,9929$ ; catequina:  $y = 0,0115x + 0,0052$ ,  $R^2 = 0,9991$ ; malvidina:  $y = 0,0432x + 0,0105$ ,  $R^2 = 0,9985$ .

#### 4 Resultados y Discusión

Se utilizaron un total de 15 muestras de uvas de cinco variedades tintas cultivadas en una zona muy próxima en todos los casos en el área de Gíbalbín (provincia de Cádiz). Se hicieron un total de 10 muestreos (muestras denominadas M1 y M2) durante maduración de las 5 variedades (SY: Syrah, Te: Tempranillo, PV: Petit Verdot, CS: Cabernet Sauvignon y TR: Tintilla de Rota) y además se tomaron muestras de las uvas correspondientes a la cosecha empleada para la vinificación (muestras denominadas V).

En la figura 2 se recoge el parámetro de madurez tecnológica (cociente entre el grado sacarimétrico en °Bé y la acidez expresada en g/L de ácido tartárico) medidos sobre las uvas utilizadas. Puede comprobarse como este parámetro oscila desde un valor de 0,14 para TR hasta 4,65 para Te. Así pues se ha dispuesto de un abanico amplio de muestras tanto en cuanto a variedades como en cuanto a grados de maduración. Hay que recordar que el interés en muestras no maduras radica en el posible aprovechamiento de uvas de aclareo.

Las muestras correspondientes a M1 y M2 en todas las variedades fueron tomadas en las mismas fechas, por lo que las diferencias en madurez tecnológica, se deben a los diferentes periodos vegetativos que presentan las paridades seleccionadas, a pesar de ser cultivadas en zonas muy cercanas. Cabe destacar que la variedad que alcanza una mayor madurez tecnológica es la variedad Tempranillo (con un índice de 4,6), mientras que la variedad Tintilla de Rota es la que presenta una madurez tecnológica más baja (valores que van desde 0,14 hasta 2,53), con un valor de 50% del valor alcanzado por la variedad Tempranillo. Sin duda, estas diferencias en el grado de madurez se deberán reflejar en el perfil de los valores en los parámetros que se han cuantificado dentro del estudio.

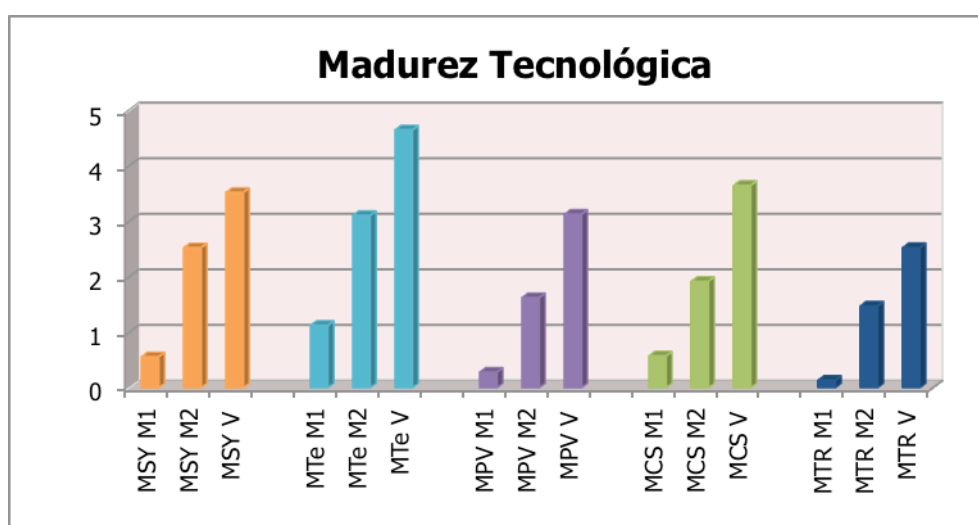


Fig. 2. Valores de Madurez Tecnológica

En cuanto a los valores de compuestos de interés en las muestras de uvas, en las gráficas se muestran los valores encontrados para polifenoles totales, antocianos y taninos en las uvas (Fig. 3-5). Puede comprobarse como, al igual que en la madurez tecnológica, se dispuso de un amplio intervalo de valores, especialmente marcado en el caso de los taninos (Fig. 5) donde se llegaron a encontrar diferencias de hasta un orden de magnitud entre las muestras de uvas procedentes de estados de baja madurez, hasta las muestras de vendimia.

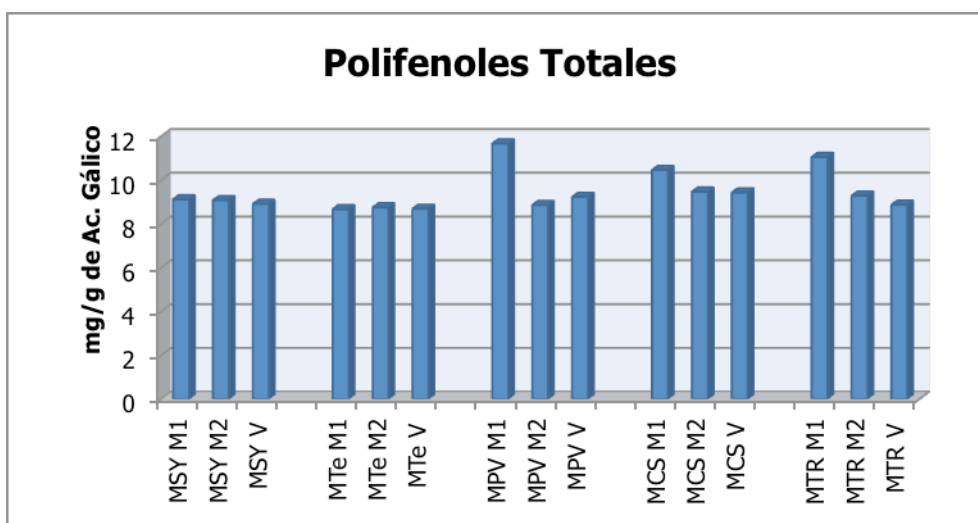


Fig. 3. Polifenoles Totales Iniciales en las 5 variedades

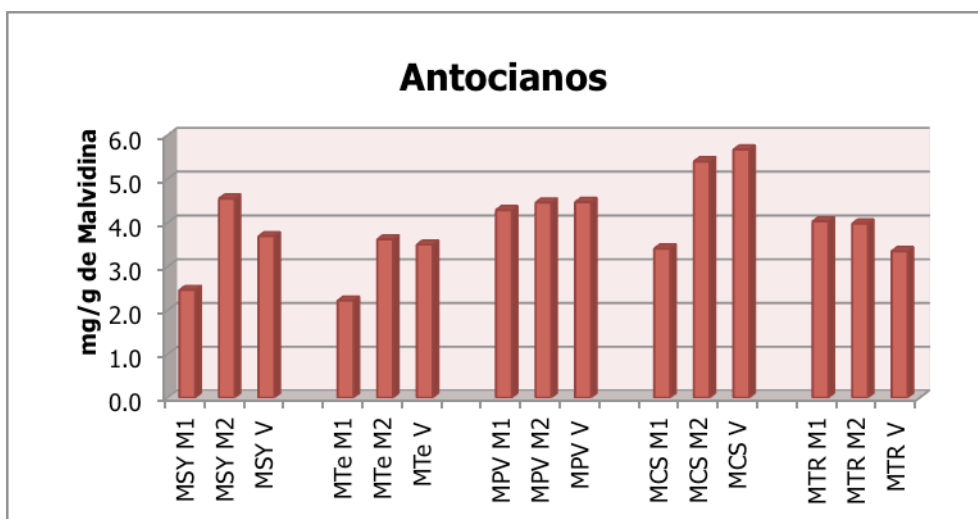


Fig. 4. Antocianos Iniciales en las 5 variedades

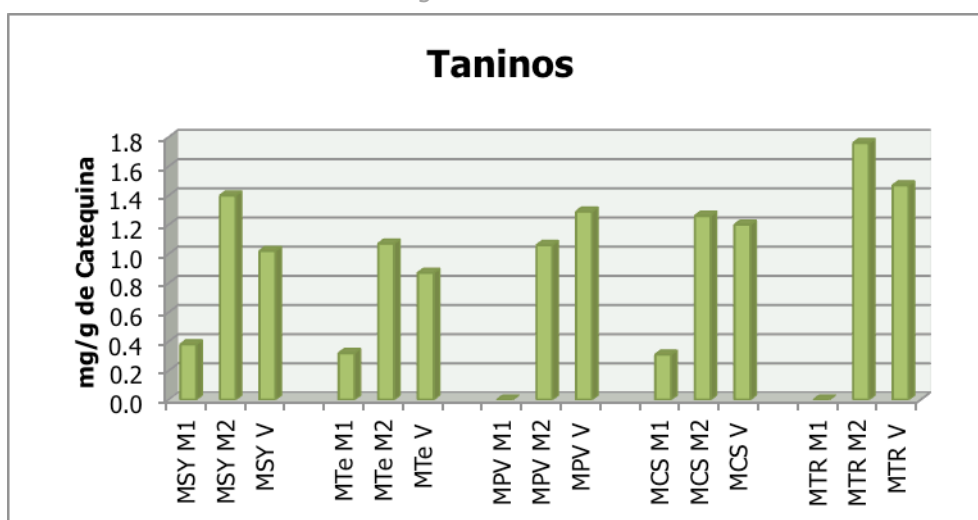


Fig. 5. Taninos Iniciales en las 5 variedades

#### 4.1 Cambios en la composición fenólica durante la preparación de la mermelada

En la tabla 1 se presentan las variaciones en los valores de polifenoles totales y antocianos desde la uva de partida hasta la mermelada preparada, teniendo en cuenta la dilución correspondiente a la adición de los otros componentes de la mermelada (azúcar y pectina). Puede comprobarse como el proceso de preparación de la mermelada repercute en ligeros cambios en la concentración de los parámetros analizados, oscilando las pérdidas entre el valores del 15 % para las variedades Te y Sy en el caso de polifenoles totales y la no existencia de pérdidas en otras de ellas tanto para polifenoles totales como para antocianos. Este hecho implica que tanto la exposición a oxidaciones durante la preparación, como el calentamiento que se realiza a 70°C no afectan de manera significativa al contenido polifenólico, por lo que las propiedades bioactivas de las uvas se deben transmitir a la mermelada resultante.

| Muestra | Polifenoles | Antocianos |
|---------|-------------|------------|
|         | % pérdida   | % pérdida  |
| MSY     | 14,73       | 0,98       |
| MTe     | 15,43       | -9,29      |
| MPV     | 1,41        | -7,97      |
| MCS     | 11,21       | 7,80       |
| MTR     | 0,42        | -4,54      |

Tabla 1. Porcentajes de pérdida

En el caso de los taninos no se incluyen los datos al haberse detectado errores en la determinación de los niveles de taninos en las muestras recién preparadas debido a la utilización de pectina en la preparación de las mismas. Este tipo de muestra recién preparada ha originado una muy alta variabilidad en los datos y con toda seguridad una estimación no real de los niveles de taninos en las mermeladas.

Si se observan los datos por variedad, e incluso por nivel de maduración, no se han detectado comportamientos particulares en cuanto a la estabilidad durante la preparación, es decir, los diferentes polifenoles presentes en las muestras tanto durante la maduración como en las muestras correspondientes a la vendimia no han presentando susceptibilidades especiales a la degradación durante la preparación de las mermeladas. Si tenemos en cuenta además que nos encontramos ante muestras que con toda seguridad poseen niveles sustancialmente distintos de enzimas de tipo oxidásicas, sus actuaciones han sido eficazmente limitadas durante la preparación y no se han registrado efectos notables en ningún caso. No se tiene sin embargo, seguridad sobre su desactivación completa; esto deberá ser puesto de manifiesto durante el estudio de la estabilidad presentado en el apartado siguiente de esta memoria. Para el desarrollo de la preparación de mermeladas a escala industrial se debería repetir estas mediciones y de igual forma maximizar la estabilidad de los polifenoles, pero si se tienen en cuenta que a nivel de laboratorio el contacto con el aire es mayor, debido al tamaño de los preparados, no se puede inducir que se vayan a producir mayores degradaciones a escala industrial; al contrario se puede pensar que se registrarán valores similares.

Este es un punto de partida especialmente interesante, dado que se garantiza la disponibilidad de la totalidad de los compuestos antioxidantes durante la preparación de las mermeladas. Posteriormente habrá que comprobar su estabilidad en las mismas en diversos sistemas de conservación, sin embargo

partir desde el máximo valor posible de componentes fenólicos es un excelente origen para el desarrollo del estudio.

## 4.2 Resultados del seguimiento de las mermeladas elaboradas

### 4.2.1 Seguimiento en Mermelada de Syrah

A continuación se muestra la evolución de los polifenoles totales, antocianos y taninos (Fig. 6-8) en las mermeladas de Syrah.

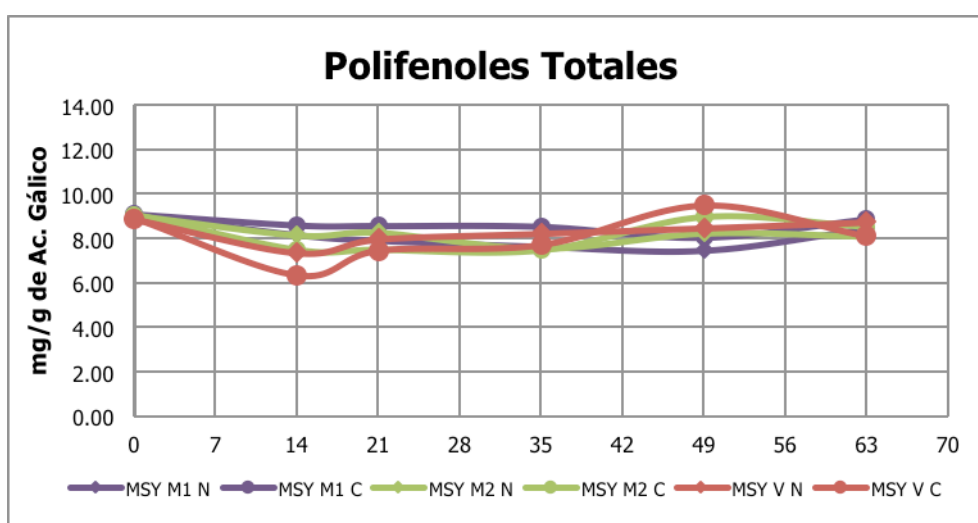


Fig. 6. Polifenoles Totales en Mermeladas de Syrah

Como puede comprobarse en todos los casos tanto los valores como las evoluciones de las mermeladas fueron muy similares, registrándose un decremento tras 14 días de conservación para posteriormente estabilizarse y mantener unos niveles muy constantes hasta el último día del seguimiento realizado. Hay que destacar que todas las muestras de uva de la variedad Syrah, presentaron unos niveles de polifenoles totales muy similares, a pesar de presentar índices de madurez tecnológicas bien diferentes. Este aspecto se relaciona con trabajos en los que se está desarrollando valores de índice de madurez fenólica como parámetro adicional en la caracterización de la madurez de vinos blancos o tintos, dada la importancia de los mismos en la elaboración de vinos.



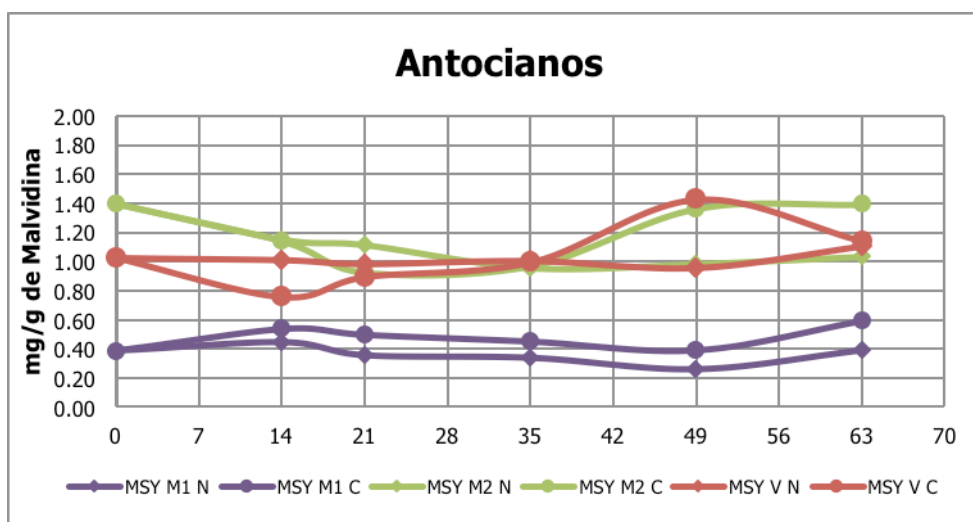


Fig. 7. Antocianos Totales en Mermeladas de Syrah

En el caso de los antocianos totales, se nota una diferencia en los puntos de partida de las tres uvas utilizadas de Syrah. Las uvas correspondientes a M1 contenían una notable menor cantidad de antocianos que las uvas procedentes del M2 y del punto de vendimia, habiendo escasas diferencias entre estos dos últimos (0,38 mg/g, 1,02 mg/g y 1,40 mg/g respectivamente).

En cuanto a la evolución, se ha encontrado un proceso similar al registrado para polifenoles, que implica un decremento de los antocianos totales en el análisis hasta 14 días del seguimiento, para posteriormente estabilizarse en unos niveles de entre 0,50 y 0,59 mg/g para M1, entre 1,0 y 1,1 mg/g para M2 y entre 1,0 y 1,4 mg/g para V. Puede asimismo comprobarse que como ocurrió en el caso de los polifenoles totales, las dos alternativas de conservación (congelación y refrigeración) no influyeron en el comportamiento de los antocianos en las mermeladas.

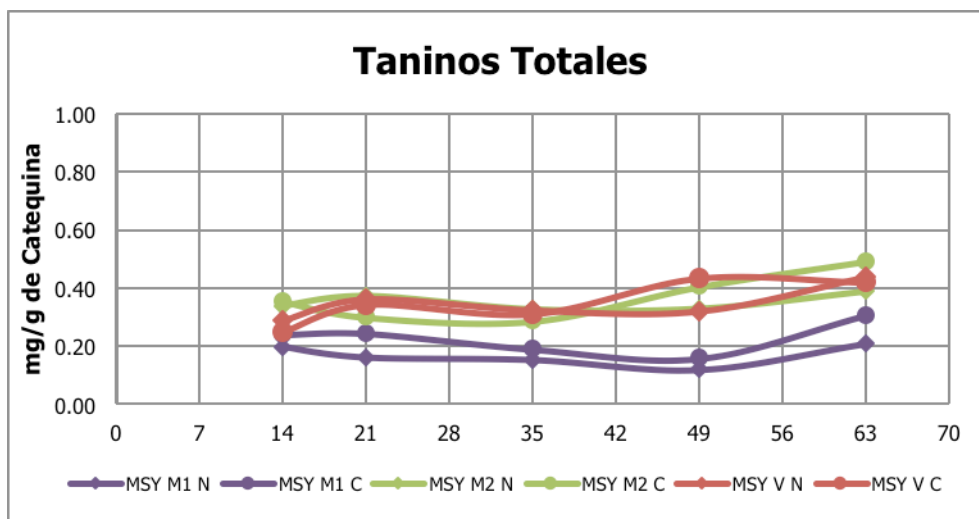


Fig. 8. Taninos Totales en Mermeladas de Syrah

Nuevamente se encuentra una evolución paralela entre las muestras durante la conservación, tanto a  $-32^{\circ}\text{C}$  como a  $4^{\circ}\text{C}$ . En cuanto a la evolución por tipo de muestra, todas presentan estabilidad y ligero incremento al final del periodo de estudio. Este incremento hay que relacionarlo con el proceso de liberación de taninos desde las uniones establecidas con la pectina, que parece comienza a darse tras 50 días de conservación.

Con lo visto sobre la variedad SY, se puede concluir que:

Los sistemas de conservación influyen de forma similar en la composición final de las muestras para los tres parámetros utilizados, o dicho de otra forma, se pueden conservar en refrigeración o en congelación, encontrándose los mismos resultados de estabilidad.

Las diferencias en composición fenólica en el punto de partida suelen reproducirse durante todo el periodo que se mantuvo el seguimiento. Es decir, no ha diferencias en la sensibilidad de los componentes particulares de cada etapa de maduración ante las condiciones del seguimiento. Esto permitiría poder elegir muestras de diferentes periodos de maduración sin necesidad de revisar contenidos específicos de polifenoles.

Estos aspectos deberán ser comprobados en todos los casos con la revisión de los resultados de las restantes variedades.

#### 4.2.2 Seguimiento en Mermelada de Tempranillo

A continuación se muestra la evolución de los polifenoles totales, antocianos y taninos (Fig. 9-11) en las mermeladas de Tempranillo.

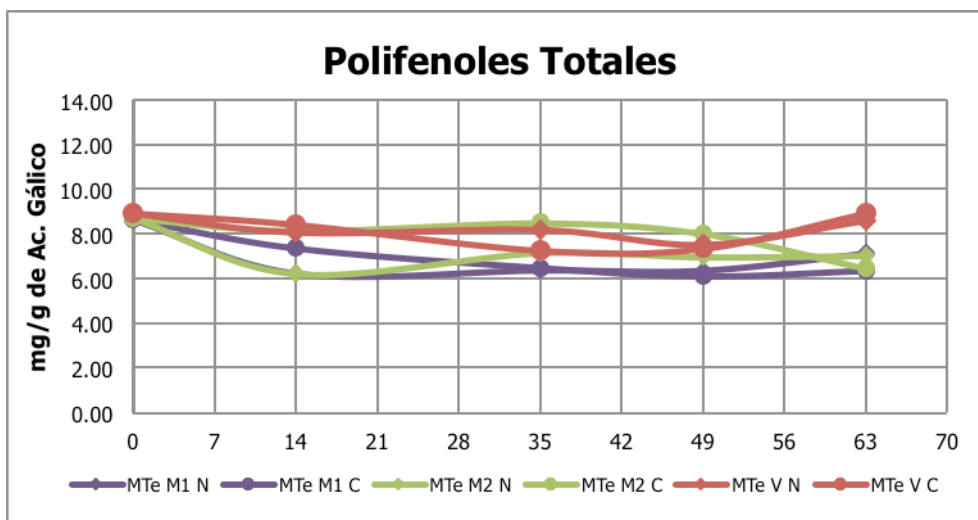


Fig. 9. Polifenoles Totales en Mermeladas de Tempranillo

En líneas generales el comportamiento de los polifenoles totales de esta variedad es similar al caso de la variedad Sy, sin embargo hay que destacar que al final del periodo de seguimiento, las muestras correspondiente a M2 y M1 presentan valores similares: M1 6,38 mg/g en congelador y 7,07 mg/g en nevera. Y en el caso de M2 6,50 mg/g en congelador y 7,07 mg/g en nevera. Mientras que las muestras de vendimia V, mantienen su diferencia con respecto a las muestras de maduración ya que al finalizar termina con la misma concentración que al inicio de 8,96 mg/g indistintamente del método de conservación. Así pues, en este caso, parece que las muestras correspondientes a la V generan mermeladas algo más estabilizadas que las demás estados de maduración.

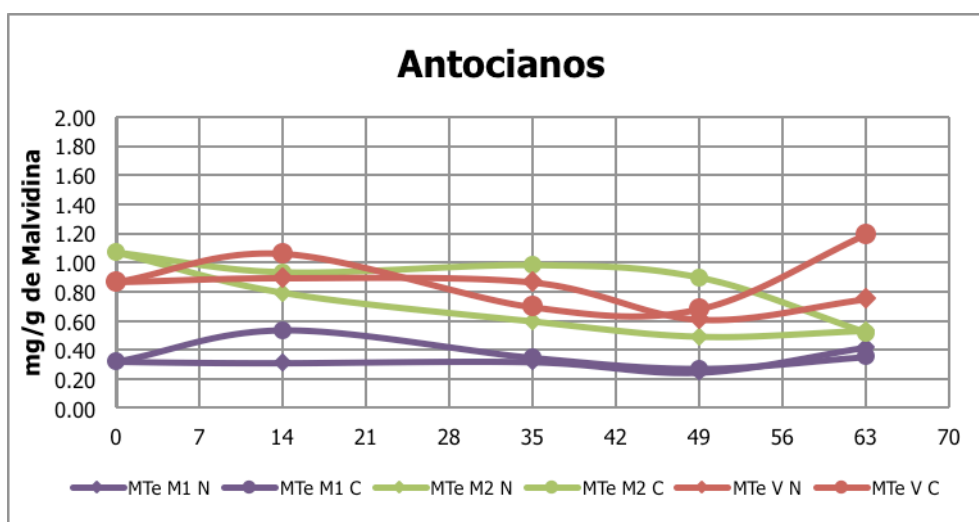


Fig. 10 Antocianos Totales en Mermeladas de Tempranillo

En este caso se observa una ligera inestabilidad de los antocianos correspondientes a M2, en el caso de la mermelada conservada en frigorífico (+4 °C) dicha inestabilidad se pone de manifiesto prácticamente desde el principio del seguimiento, mientras que en el caso de las mermelada conservada en congelador (-32 °C) dicha inestabilidad sólo aparece al final del seguimiento. Por otro lado los antocianos correspondientes a M1 y a V permanecen estables durante los dos meses de seguimiento, aunque se han registrado algunas oscilaciones que podrían indicar una inestabilidad relativa en el caso de las muestras tipo V. Particularmente en el caso de V conservado a -32 °C, que presenta prácticamente el mismo valor que al comienzo del seguimiento, se han registrado valores inferiores en días intermedios.

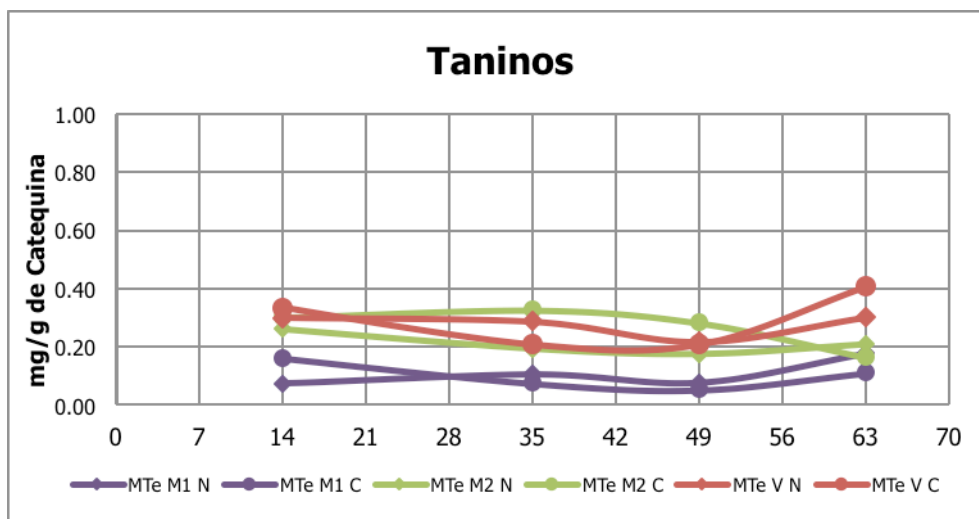


Fig. 11. Taninos Totales en Mermeladas de Tempranillo

Al igual que los antocianos, los taninos de las muestras menos maduras y los de las muestras de vendimia presentan una estabilidad absoluta durante los dos meses de seguimiento, mientras que en el caso de los taninos correspondientes a las muestras de madurez intermedia, se registra una ligera degradación en las dos condiciones de conservación, si bien en las muestras conservadas a 4°C dicha degradación comienza antes que en las muestras conservadas a -32°C, que conservan los taninos intactos hasta un mes tras el inicio del seguimiento. Es el mismo efecto que se observó en antocianos. En cuanto a las mermeladas elaboradas con uvas de vendimia (muestras V) se han registrado también en la determinación de los antocianos, tal como se comentó anteriormente.

### 4.2.3 Seguimiento en Mermelada de Petit Verdot

A continuación se muestra la evolución de los polifenoles totales, antocianos y taninos (Fig. 12-14) en las mermeladas de Petit Verdot.

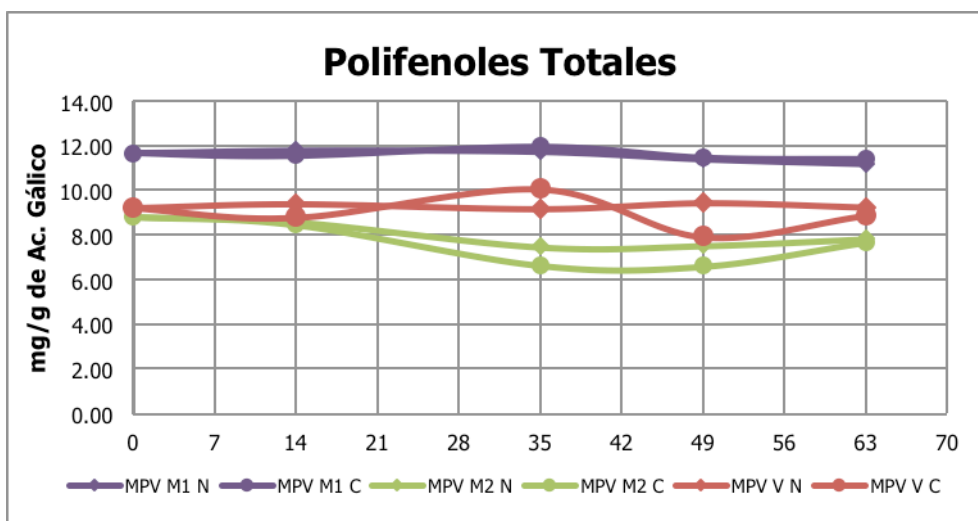


Fig. 12. Polifenoles Totales en Mermeladas de Petit Verdot

Esta variable es la que presenta mayores diferencias entre los valores de los tres tipos de muestras de esta variedad. Sin embargo, el comportamiento es similar al encontrado para Te, por un lado la muestra más verde (M1) presenta una estabilidad absoluta durante toda la duración del seguimiento, al igual que ocurre con la muestras más madura (V). Sin embargo, la muestra de madurez intermedia presenta una ligera disminución de los polifenoles totales, desde los 8,86 mg/g de ácido gálico hasta un 7,71 mg/g, es decir una disminución de alrededor del 13%, que comienza ya desde el primer punto del seguimiento.

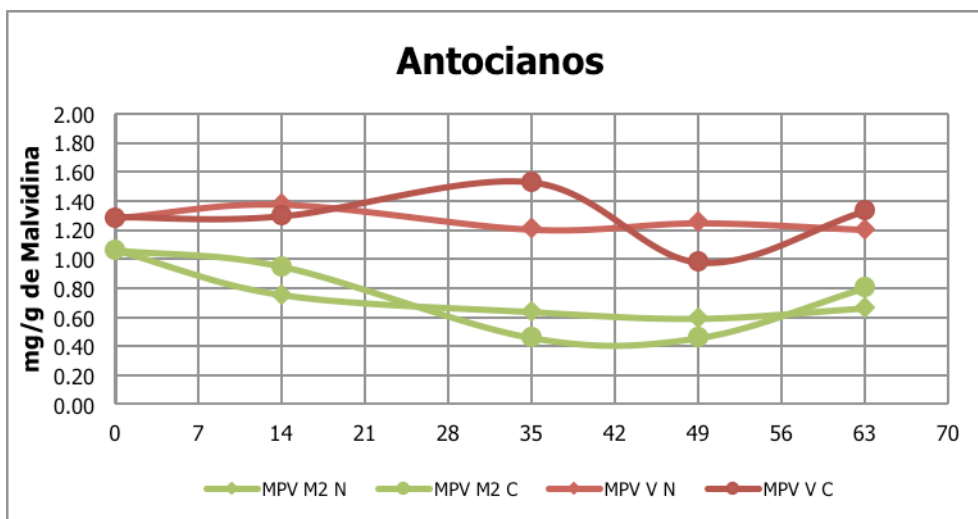


Fig. 13. Antocianos Totales en Mermeladas de Petit Verdot

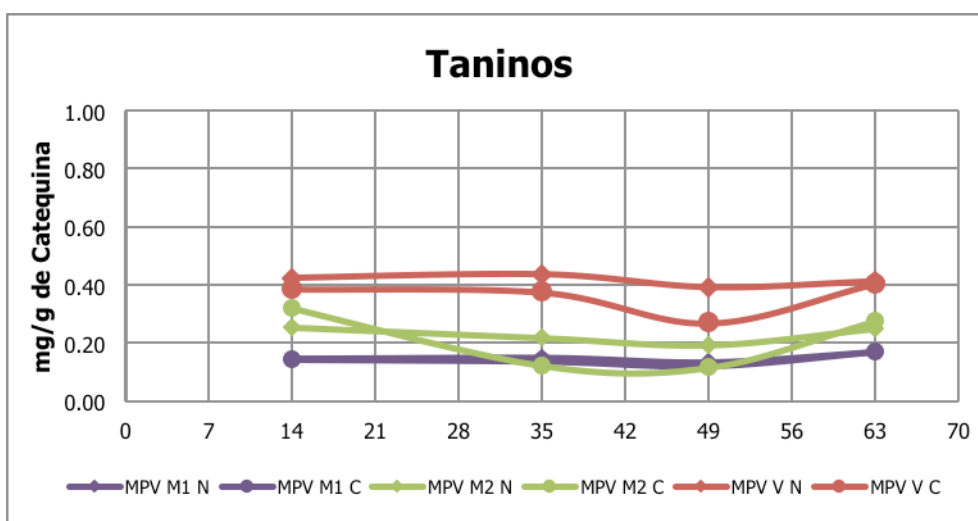


Fig. 14. Taninos en Mermeladas de Petit Verdot

Tanto en taninos como en antocianos se repiten los comportamientos observados en el caso de polifenoles totales, es decir, absoluta estabilidad en el caso de las muestras más verdes y de las maduras, mientras que en el caso de las intermedias (M2) se registran ligeras disminuciones de los valores de antocianos y de taninos. Como se ha comentado, comportamiento muy similar al registrado para las mermeladas elaboradas con la variedad Te.

#### 4.2.4 Seguimiento en Mermelada de Cabernet Sauvignon

A continuación se muestra la evolución de los polifenoles totales, antocianos y taninos (Fig. 15-17) en las mermeladas de Cabernet Sauvignon.

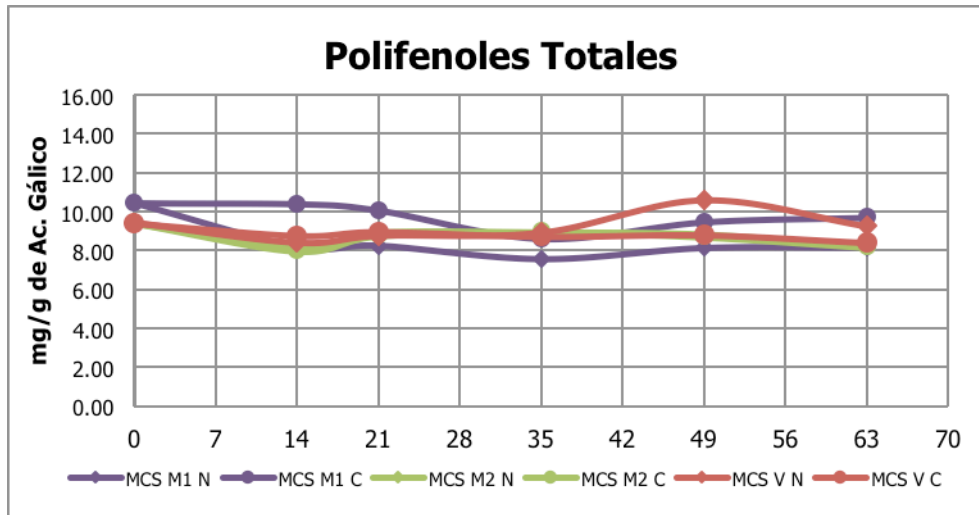


Fig. 15. Polifenoles Totales en Mermeladas de Cabernet Sauvignon

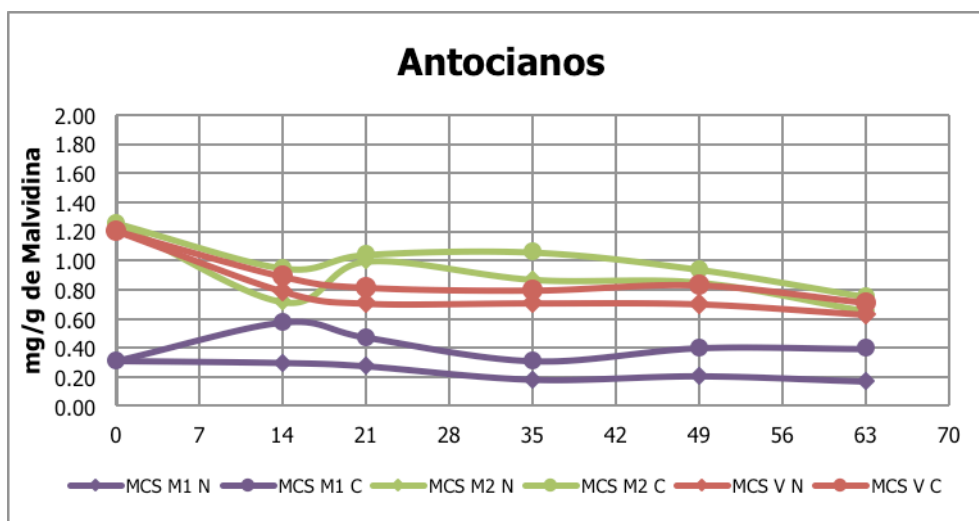


Fig. 16. Antocianos Totales en Mermeladas de Cabernet Sauvignon



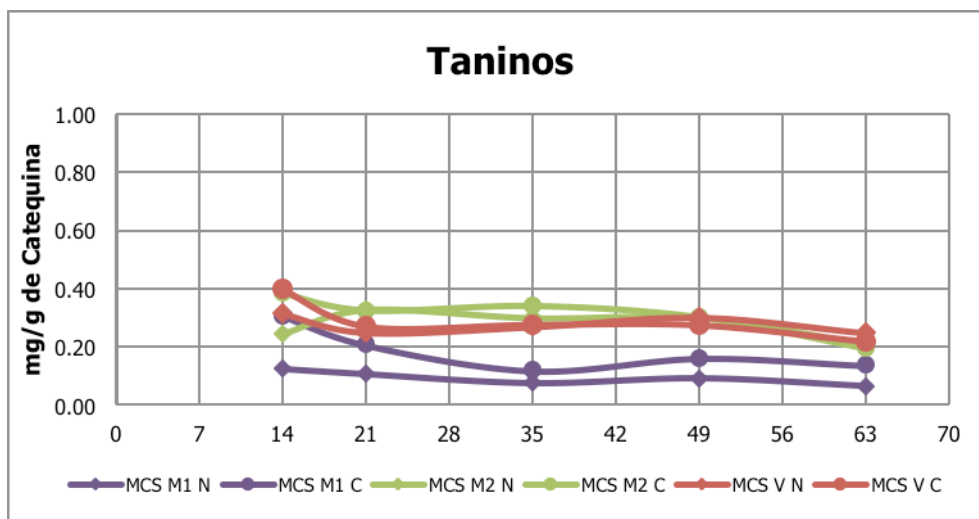


Fig. 17. Taninos Totales en Mermeladas de Cabernet Sauvignon

Para la variedad CS, en los tres parámetros medidos se ven las mismas tendencias para todas las muestras, estabilidad casi completa para todas las muestras, independientemente de su estado de madurez inicial. Este aspecto es diferente a lo observado para las variedades anteriores (Te y PV), donde la muestras de madurez intermedia presentaba una ligera disminución en la mayoría de los parámetros analizados. Si tenemos en cuenta además que la madurez tecnológica alcanzada por CS es prácticamente la misma que la registrada para PV, este diferente comportamiento no puede estar ligado a esta forma de medición de la madurez, sino que la uva de la variedad PV, en particular, y de la Te por extensión, debe presentar una composición a nivel de parámetros diferentes del grado sacarimétrico y de la acidez total, distinta a la presentada por CS. Sin embargo con los datos disponibles, no es posible aventurar una explicación para estos comportamientos distintos en diferentes variedades.

#### 4.2.5 Seguimiento en Mermelada de Tintilla de Rota

A continuación se muestra la evolución de los polifenoles totales, antocianos y taninos (Fig. 18-20) en las mermeladas de Tintilla de Rota.

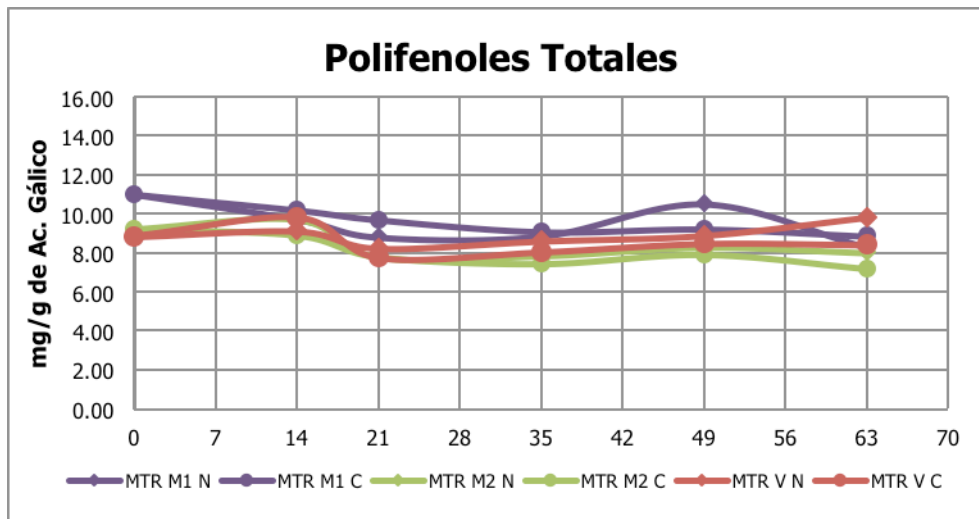


Fig. 18. Polifenoles Totales en Mermeladas de Tintilla de Rota

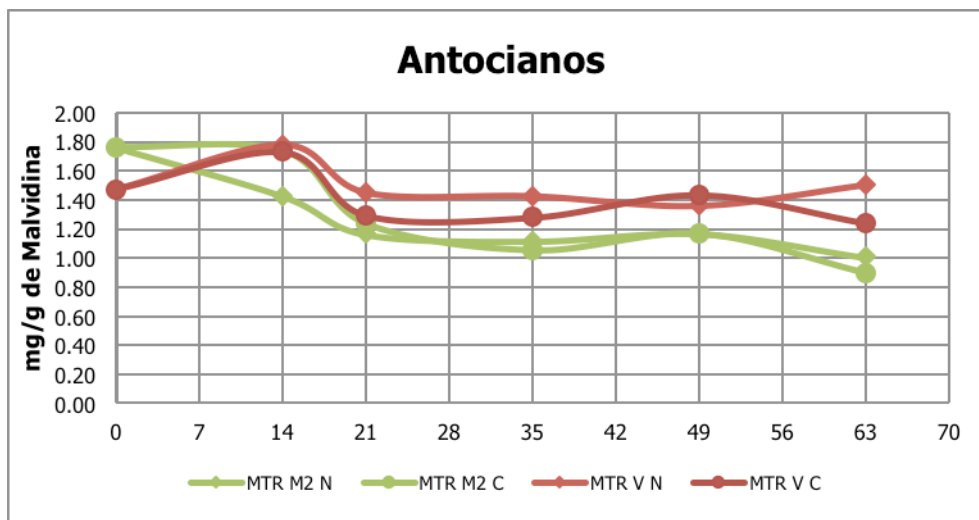


Fig. 19. Antocianos Totales en Mermeladas de Tintilla de Rota

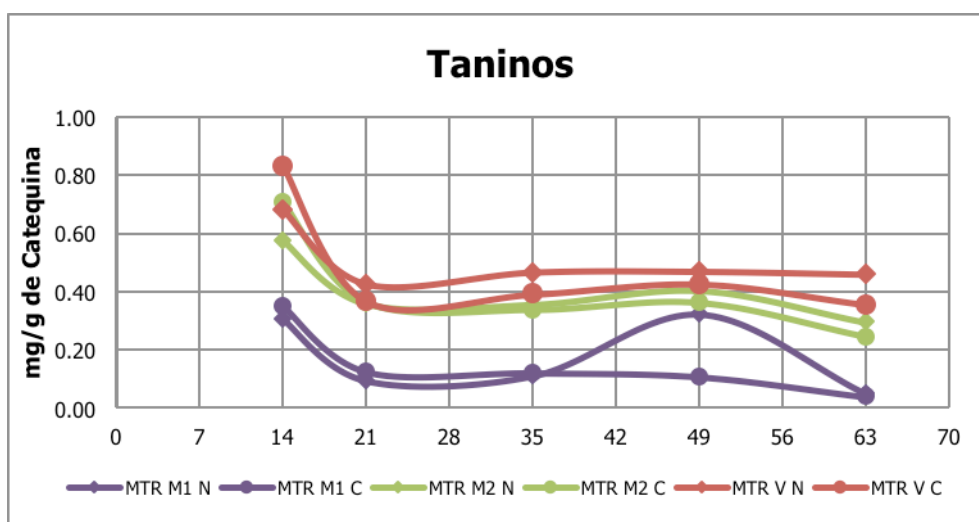


Fig. 20. Taninos Totales en Mermeladas de Tintilla de Rota

En el caso de la variedad TR, hay que recordar que se distingue notablemente de las demás al presentar un grado de madurez tecnológica sensiblemente inferior a las demás variedades analizadas. A este comportamiento diferente, se le añade además que en el caso de antocianos por ejemplo, un mayor nivel de madurez tecnológica no se corresponde con un mayor nivel de antocianos en las uvas, es decir, las mermeladas elaboradas con uvas más maduras no tienen necesariamente un mayor contenido de polifenoles, antocianos o taninos que las mermeladas elaboradas con uvas menos maduras. Este aspecto es contrario a la mayoría de las otras variedades empleadas en la elaboración de las mermeladas de este estudio.

En cuanto a estabilidad de la composición fenólica de las mermeladas, se ha encontrado una estabilidad alta en el caso de los polifenoles totales, mientras que tanto para antocianos como para taninos, se ha detectado degradación apreciable desde el primer punto de seguimiento hasta el final del mismo. Siendo más notable en el caso de taninos para las mermeladas elaboradas con uvas más maduras y siendo similar en el caso de antocianos para las dos mermeladas con contenido medible de antocianos (M2 y V). No se han observado diferencias entre las mermeladas conservadas en distintas condiciones (refrigeración o congelación) salvo en un punto particular de la evolución de los antocianos en M2, siendo por tanto no significativo.

## 5 Conclusiones

Se ha realizado un estudio de la estabilidad de la composición polifenólica de mermeladas elaboradas a partir de diferentes variedades de uvas y en distinto estado de maduración. De forma general se puede concluir:

Durante la elaboración de las mermeladas no se registras una disminución apreciable de polifenoles totales ni de antocianos, lo cual es el punto de partida adecuado para maximizar el aprovechamiento de los residuos de vinificación, dado que no se degradan los componentes de interés objetivos de este estudio. En el caso de los taninos, entre los contenidos en las uvas y los encontrados en las mermeladas se deben, con toda seguridad, al método de determinación y al efecto de la pectina sobre el mismo.

En cuanto al seguimiento y estabilidad de las mermeladas, en la mayor parte de los casos estudiados, después de 2 meses de seguimiento, no se registran disminuciones notables de los polifenoles de las mermeladas conservadas tanto a -32 °C como a +4 °C, siendo este el primer aspecto a destacar, la estabilidad en la conservación en condiciones de refrigeración en frigorífico sin congelación. Se han encontrado ligeras diferencias que se compensan en seguimientos prolongados hasta dos meses de duración.

En segundo lugar, aquellos casos en los que se ha registrado una disminución detectable de los niveles de polifenoles, se han localizado en mermeladas elaboradas a partir de uvas en un estado de maduración intermedio dentro de las ensayadas, es decir, tanto las mermeladas elaboradas con uvas maduras, como las mermeladas elaboradas con uvas en un bajo estado de madurez, presentan estabilidad en el tiempo en cuanto a la composición fenólica. Mientras que las uvas de intermedia madurez son las que originan mermeladas que sufren pérdidas de polifenoles durante su conservación. Dado el conjunto de muestras empleadas, se puede concluir que la menor estabilidad no está

asociada a un punto de madurez tecnológica concreto, por lo que este parámetro no podría ser usado en la selección de uvas para la elaboración de mermeladas, sino que habría que recurrir a otro tipo de parámetros más específicos.

## 6 Bibliografía

- [1] R. M. Ortega. "Importance of functional foods in the Mediterranean diet". *Public Health Nutr.* 2006; 9, 1136-1140
- [2] P. M. Kris-Etherton, K. D. Hecker, A. Bonanome, S. M. Coval, A. E. Binkoski, K. F. Hilpert, A. E. Griel, T. D. Etherton. "Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer". *Am J Med.* 2002; 113 (Suppl 9B), 71S-88S
- [3] J. E. Freedman, C. Parker III, L. Li, J. A. Perlman, B. Frei, V. Ivanov, et al. "Select flavonoids and whole juice from purple grapes inhibits platelet function and enhance nitric oxide release". *Circulation* 2001; 103, 2792-2798
- [4] C. Laurent, P. Besancon, C. Auger, J.M. Rouanet, B. Caporiccio. "Grape seed extract affects proliferation and differentiation of human intestinal Caco-2 cells". *J. Agric. Food Chem.* 2004; 52, 3301-3308
- [5] A. Sanchez Magro. "Diccionario del Vino". *Unomasuno Editores, Madrid (España)* 2011.
- [6] N. Es-Safi, C. Le Guerneve, V. Cheynier, M. Moutounet. "New polyphenolic compounds formed by evolution of (+)-catechin in hydroalcoholic solution and their implication in color changes of grape-derived foods". *J. Agric. Food Chem.* 2000; 48, 4233-4240
- [7] A. P. B. Gollücke, J.C. de Souza, D. Q. Tavares. "Sensory stability of Concord and Isabel concentrated grape juices during storage". *J Sens Studies* 2008; 23, 340-353

- [8] I. Lesschaeve, A. C. Noble. "Polyphenols: factors influencing their sensory properties and their effects on food and beverage preference". *Am. J Clin. Nutr.* 2005; 81 (Suppl), 330-335
- [9] Y. Yilmaz, R. T. Toledo. "Major flavonoids in grape seed and skins: antioxidant capacity of catechin, epicatechin, and galic acid". *J Agric. Food Chem.* 2004; 52, 255-260
- [10] D. M. Goldberg, J. Dam, M. Carey, G. J. Soleas. "Cultivar-specific patterns of polyphenolic constituents in wines from the Finger Lakes región of New York State". *J Wine Res.* 2000; 11, 155-164
- [11] E. Q. Xia, G. F. Deng, Y. J. Gou, H. B. Li. "Biological activities of polyphenols from grape". *Int. J Mol. Sci.* 2010; 11, 622-646
- [12] A. S. Garewall. "Antioxidants and disease prevention". *CRC Press*: Boca Raton, FL, 1997.
- [13] F. Saura-Calixto. "Antioxidant Dietary Fiber Product: A New Concept and a Potential Food Ingredient". *J. Agric. Food Chem.* 1998; 46, 4303-4306
- [14] R. Canett Romero, A. Ledesma Osuna, R. M. Robles, S. R. Morales Castro, L. León Martínez, R. León-Gálvez R. "Caracterización de galletas elaboradas con cascarilla de orujo de uva". *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 2004; Vol. 54, Núm. 1
- [15] D. Górecka, B. Pacholek, K. Dziedzic, M. Górecka. "Raspberry Pomace as a Potencial Fiber Source for Cookies Enrichment". *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.* 9 (4) 2010, 451-462

- [16] C. Carrera, A. Ruiz-Rodriguez, M. Palma, C. G. Barroso. "Ultrasound Assisted Extraction of Phenolic Compounds from Grapes". *Anal. Chim. Acta*, Vol. 732 2012; 100-104



## **7 Proyecto de Tesis**

### **7.1 Objetivos de Tesis**

El objetivo general de este estudio es la determinación de los posibles usos de uvas y residuos de la vinificación en la elaboración de productos alimenticios específicos o en el enriquecimiento de otros productos ya introducidos en la dietas habituales, con vistas a introducirles o incrementar sus propiedades beneficiosas para la salud.

Este objetivo general se concreta en los siguientes objetivos:

- Caracterización de parámetros de la uva y de los residuos:
  - Contenido fenólico
  - Contenido en aminoácidos
  - Poder antioxidante
- Selección de los productos más adecuados para la elaboración o el enriquecimiento de alimentos, en relación con sus propiedades antioxidantes
- Elaboración de productos nuevos y enriquecimiento de productos habituales
- Determinación de los cambios en compuestos fenólicos, aminoácidos y actividad antioxidante en los alimentos o tras su enriquecimiento
- Estudio de la estabilidad de los componentes de interés en los alimentos durante su conservación
- Determinación de los cambios en las propiedades organolépticas y determinación de preferencias por los consumidores

## 7.2 Antecedentes y estado actual del tema

Son numerosos los trabajos encontrados en la bibliografía en los que se puede comprobar que los compuestos fenólicos presentan propiedades beneficiosas para la salud en diversos ámbitos de la misma. Entre estas actividades se encuentra tanto actividades internas en el organismo tras su ingesta, como actividades en relación con el cuidado y tratamiento de la piel.

En el primer caso, referente a la actividad dentro del organismo humano de los compuestos fenólicos, son diversos y variados los beneficios que presentan este tipo de compuestos para la salud. Son además muchos y variados los compuestos, en particular, fenólicos que han mostrado potentes efectos sobre los procesos biológicos y que tienen la capacidad de influir en el riesgo de enfermedades a través de varios mecanismos complementarios y se superponen, estando muchos de ellos aún por elucidar y en estudio.

Si nos centramos en los antocianos, un tipo particular de compuestos fenólicos, la principal fuente para aquellas personas que comen frutas y beben vino tinto habitualmente, son los principales componentes de la dieta, en cuanto a cantidad ingerida. Aunque hay excepciones, a diferencia de otros flavonoides que son absorbidos y excretados, la mayoría de los antocianos no parece sufrir un extenso metabolismo desde las formas más complejas (acetil derivados, cumaril derivados, glucósidos) hasta las más simples (agluconas)<sup>1,2,3,4</sup>. En estudios de alimentación con animales y también con seres humanos, generalmente sólo el 0,1% aproximadamente de las cantidades ingeridas, y a veces mucho menos, se ha detectado en la orina. Los datos disponibles concluyen que los determinantes de la absorción y la excreción no son sólo la naturaleza de la mitad del azúcar, sino también por la estructura de la antocianidina en sí.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> T. K. McGhie, G. D. Ainge, L. E. Barnett, J. M. Cooney and J. D. Jensen, *J. Agric. Food Chem.*, 2003, **51**, 4539–4548

<sup>2</sup> J. M. Cooney, J. D. Jensen and T. K. McGhie, *J. Sci. Food Agric.*, 2004, **84**, 237–245

<sup>3</sup> P. Milbury, G. Cao, R. L. Prior and J. Blumberg, *Mech. Ageing Develop.*, 2002, **123**, 997–1006

<sup>4</sup> T. Ichihara, Y. Shida, M. M. Rahman, Y. Hatano and T. Konishi, *J. Agric. Food Chem.*, 2005, **53**, 7312–7319

Prior y Wu han hecho una revisión sobre la biodisponibilidad de antocianos tanto en el caso de animales como de humanos.<sup>5</sup> No se han podido obtener conclusiones definitivas sobre la biodisponibilidad de este tipo de compuestos debido a que se suelen presentar en las frutas bajo diversas formas relacionadas y además convertibles entre sí. Por ejemplo, las frambuesas contienen compuestos derivados de la cianidina-3-O-glucósido, que van desde mono a trisacáridos.<sup>1,6</sup> Esto hace que el contenido de antocianinas en plasma y orina sea complejo, y aunque no sea imposible, sí resulta difícil evaluar en términos de absorción/excreción, especialmente si tenemos en cuenta que una metilación en 3-O puede convertir a cianidina en peonidina, y delfinidina a petunidina, y una metilación en 5-O convierte petunidina a malvidina. Hay otras frutas con perfiles muchos más simples y que, por lo tanto, presentan una interpretación mucho más fácil en cuanto a su metabolismo en el cuerpo humano, como es el caso de las fresas y moras, donde hay antocianinas predominantes, la pelargonidina-3-O-glucósido<sup>7</sup> para las fresas y la cianidina-3-O-glucósido<sup>8</sup> para las moras. En el caso de las uvas y de los vinos, la composición es más compleja<sup>9</sup>, por lo que es de esperar que la composición de los subproductos y residuos sea asimismo de alta complejidad.

En los casos en los que se dispone de resultados fiables en cuanto a su absorción/excreción por el organismo, se tienen evoluciones como la mostrada a continuación, correspondiente a un ensayo realizado sobre flavonoles, llevado a cabo con voluntarios a los que se les suministró cebollas conteniendo 275  $\mu$ moles de flavonoles en forma de glucósidos. En la gráfica se representan los niveles en sangre de los compuestos de tipo flavonol tras la ingesta de la citada cantidad (tomado de las referencias <sup>10</sup> y <sup>11</sup>).

<sup>5</sup> R. L. Prior and X. Wu, *Free Rad. Res.*, 2006, **40**, 1014–1028

<sup>6</sup> M. J. Cho, L. R. Howard, R. L. Prior and J. R. Clark, *J. Sci. Food Agric.*, 2004, **84**, 1771–1782

<sup>7</sup> H. Adlercreutz, *Lancet Oncol.*, 2002, **3**, 364–373

<sup>8</sup> S. M. Henning, Y. Niu, Y. Liu, N. H. Lee, Y. Hara, G. D. Thames, R. R. Minutti, C. L. Carpenter, H. Wang and D. Heber, *J. Nutr. Biochem.*, 2005, **16**, 610–616

<sup>9</sup> R. F. Guerrero, A. Liazid, M. Palma, B. Puertas, R. González-Barrio, A. Gil-Izquierdo C. Garcia-Barroso, E. Cantos-Villar E, *Food Chem.* 2009, **112**, 949-955

<sup>10</sup> T. Shoji, S. Masumoto, N. Moriichi, H. Akiyama, T. Kanad, Y. Ohtake and Y. Goda, *J. Agric. Food Chem.*, 2006, **54**, 884–892

<sup>11</sup> N. P. Seeram, S. M. Henning, Y. Zhang, M. Suchard, Z. Li and D. Heber, *J. Nutr.*, 2006, **136**, 2481–2485

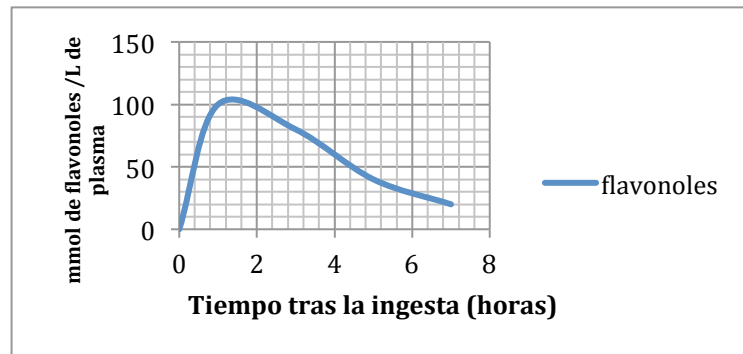


Ilustración 1. Evolución de los niveles de flavonoles en suero humano

En general la presencia de los compuestos de este tipo en sangre no va más allá de 6 horas, en algunos casos alcanza las 10 horas. Por tanto, uno de los principales inconvenientes que tiene el uso de los compuestos fenólicos como compuestos activos provienen de la necesidad de una ingesta continua de los mismos, más que de una ingesta puntual. Obviamente, se trata de compuestos que están destinados a la mejora y prevención de problemas en el organismo, no de fármacos, de ahí la necesidad de una ingesta continuada en el tiempo de estos compuestos para que muestren sus propiedades beneficiosas para la salud. Se trata por tanto, de unos compuestos muy adecuados para su introducción y/o incremento en los alimentos que se consumen habitualmente, de forma que se posibilite su ingesta continuada.

Este empleo de nutraceuticos en alimentos funcionales se desarrolla actualmente con una gran cantidad de alimentos, como por ejemplos yogures y otros derivados enriquecidos en calcio, bebidas son isoflavonas o mantequillas y derivados lácteos con fitoesteroles. Se trata de incluir en la dieta una mayor cantidad de compuestos que ingeridos de forma regular pueden incrementar el nivel de resistencia a enfermedades o procesos degenerativos. El hecho de enriquecer alimentos en aquellos componentes ya presentes de forma natural, facilita el hecho de una prevención natural de los procesos no deseados, frente a la alternativa clásica de tomar una cantidad concentrada en un medio no

natural, como puede ser un fármaco con un excipiente determinado, que por el contrario, suele facilitar su tránsito hasta el intestino.

En cuanto a los niveles encontrados en los subproductos y residuos de la fermentación, se resumen en las siguientes tablas.

**Tabla 1. Niveles de compuestos fenólicos (mg/kg) en pepitas de uvas blancas y tintas<sup>12</sup>**

| variedades         | ácido gálico | catequina | epicatequina | Epicatequin-3-O-galato | Epigallocatequin-3-O-Galato | Epigallocatequina | Procianidina B1 | Procianidina B2 | Total |
|--------------------|--------------|-----------|--------------|------------------------|-----------------------------|-------------------|-----------------|-----------------|-------|
| Cabernet Sauvignon | 2,8          | 215,0     | 89,3         | 27,9                   | 6,5                         | 0,0               | 14,8            | 11,3            | 367   |
| Merlot             | 2,7          | 182,8     | 83,4         | 58,0                   | 13,5                        | 12,9              | 13,5            | 17,6            | 384   |
| Chardonnay         | 2,0          | 38,7      | 28,0         | 12,2                   | nd                          | nd                | nd              | nd              | 80    |
| Moscatel           | 6,2          | 127,5     | 46,8         | 35,0                   | 0,1                         | 5,0               | 18,6            | 14,6            | 253   |

**Tabla 2. Antocianos encontrados en hollejos (mg/Kg fresco) de 5 variedades de uvas tintas cultivadas en Andalucía<sup>9</sup>**

|   | Jaén Tinto | Palomino Negro | Tintilla de Rota | Cabernet Sauvignon | Tempranillo |
|---|------------|----------------|------------------|--------------------|-------------|
| Delfinidin-3-glucósido                                    | 28         | 197            | 98               | 46                 | 107         |
| Cianidin-3-glucósido                                      | 7          | 37             | 36               | tr                 | 15          |
| Petunidin-3-glucósido                                     | 42         | 179            | 119              | 51                 | 91          |
| Peonidin-3-glucósido                                      | 43         | 96             | 437              | 43                 | 30          |
| Malvidin-3-glucósido                                      | 425        | 508            | 1207             | 665                | 292         |
| Delfinidin-3-acetilglucósido                              | Tr         | 18             | tr               | 21                 | 10          |
| Petunidin-3-acetilglucósido                               | Tr         | 27             | tr               | 26                 | 15          |
| Peonidin-3-acetilglucósido                                | 15         | 16             | 43               | 29                 | tr          |
| Malvidin-3-acetilglucósido                                | 137        | 67             | 153              | 552                | 49          |
| Malvidin-3- <i>p</i> -coumaroilglucósido ( <i>cis</i> )   | 11         | 78             | 21               | 18                 | 59          |
| Malvidin-3-cafeoilglucósido                               | 38         | 42             | 56               | 62                 | tr          |
| Cianidin-3- <i>p</i> -coumaroilglucósido                  | Tr         | 19             | 14               | tr                 | tr          |
| Petunidin-3- <i>p</i> -coumaroilglucósido                 | 16         | 67             | 29               | 21                 | 56          |
| Malvidin-3- <i>p</i> -coumaroilglucósido ( <i>trans</i> ) | 144        | 222            | 427              | 220                | 220         |
| Total antocianos  | 906        | 1573           | 2640             | 1754               | 944         |

<sup>12</sup> R. Guendez, S. Kallithraka, D. P. Makris, P. Kefalas *Phytochem. Anal.*, 2005, **16**, 17–23

**Tabla 3. Flavan-3-oles en hollejos (mg/Kg fresco) de 5 variedades de uvas tintas cultivadas en Andalucía<sup>9</sup>**

|              | Jaén Tinto | Palomino Negro | Tintilla de Rota | Cabernet Sauvignon | Tempranillo |
|--------------|------------|----------------|------------------|--------------------|-------------|
| Catequina    | 3.16       | 2.69           | 1.54             | 4.44               | 6.08        |
| Epicatequina | 0.62       | 0.15           | 0.33             | 0.36               | 1.50        |

**Tabla 4. Compuestos cinámicos encontrados en hollejos de uva (mg/Kg fresco) de 5 variedades de uvas tintas cultivadas en Andalucía<sup>9</sup>**

|                               | Jaén Tinto | Palomino Negro | Tintilla de Rota | Cabernet Sauvignon | Tempranillo |
|-------------------------------|------------|----------------|------------------|--------------------|-------------|
| ácido <i>trans</i> -Caftarico | 1.42       | 1.45           | 1.89             | 0.93               | 0.97        |
| ácido <i>trans</i> -Coutarico | 0.97       | 0.93           | 1.24             | 0.58               | 0.71        |

En la últimas tablas mostradas puede comprobarse como las diferentes variedades de uva tinta que se recogen en la misma presentan unas notables diferencias en cuanto a su composición en antocianos individuales. Estas diferencias se reflejarán en la composición que presentarán los residuos generados en las vinificaciones varietales que se desarrollen a partir de estas uvas.

#### Compuestos de tipo proteico

De los estudios encontrados en la bibliografía se puede extraer que:

- El contenido en proteínas de la semilla es del 8,5 % aproximadamente, similar al de otras variedades de semillas de uva estudiadas, y al de otras oleaginosas como la colza y el maíz; siendo inferior al hallado para el hollejo, que es del 13,8 %.
- Se ha estudiado la extractabilidad de estas proteínas en distintos disolventes, a fin de optimizar su extracción de ambos materiales. Los mejores resultados se obtuvieron utilizando hidróxido sódico 0,1 M, a temperatura ambiente, durante una hora y con una relación

sólido/líquido 1/1000, sin embargo únicamente técnicas de maceración simple se han usado en estos estudios, teniendo aún pendiente el empleo de técnicas asistidas de extracción, como la extracción asistida por ultrasonidos, por microondas o con líquidos presurizados.

- Se ha realizado la clasificación de las proteínas extraídas. Los resultados indican que las proteínas de ambos materiales están compuestas fundamentalmente por glutelinas (más del 45 % en ambos casos), siendo también importantes las fracciones formadas por las albúminas y las proteínas residuales.

**Tabla 5. Composición relativa en proteínas de pepitas y hollejos de uva**

| Fracción             | Abundancia relativa (%) |          |
|----------------------|-------------------------|----------|
|                      | Pepitas                 | Hollejos |
| Albúminas            | 20.0                    | 6.0      |
| Prolaminas           | 2.8                     | 5.0      |
| Glutelinas           | 44.5                    | 61.0     |
| Globulinas           | 4.6                     | 1.2      |
| Proteínas residuales | 28.0                    | 26.4     |

- Se ha medido la digestibilidad "in vitro" de las proteínas extraídas. Los resultados muestran que la digestibilidad de las proteínas de la semilla de uva (76 %) es similar a las de las extraídas del girasol y otras oleaginosas, aunque algo inferior a la de las semillas de soja. Las proteínas del hollejo de uva muestran una digestibilidad algo menor (65 %).
- Se ha estudiado la distribución de pesos moleculares de los extractos proteínicos obtenidos, observándose que las proteínas de mayores pesos moleculares se obtienen cuando se utilizan extractantes de pH neutro,

disminuyendo el peso molecular de las proteínas extraídas a medida que aumenta el pH del disolvente utilizado. Igual que se ha comentado antes, estos resultados se ha obtenido utilizando técnicas de maceración clásicas sin aporte energético concreto.

- Por último, se ha realizado la determinación de la composición en aminoácidos de las proteínas extraídas de ambos materiales observándose que en todos los casos los aminoácidos mayoritarios son los ácidos aspártico y glutámico, siendo los aminoácidos limitantes los sulfurados (metionina y cistina) y el triptófano. Un detalle que diferencia las proteínas del hollejo de las de la semilla es que en estas últimas también la lisina es un aminoácido limitante, mientras que en el hollejo esto no ocurre así. En la tabla mostrada a continuación se presentan los valores promedios de aminoácidos encontrados en comparación con la recomendación de ingesta de la FAO y con la fuente vegetal más abundante de compuestos de tipo proteico, la soja.

**Tabla 6. Aminoácidos (%) encontrados en las lías de vinificación frente a la composición recomendada por la FAO y a la composición encontrada en la soja**

| Aminoácido              | Recomendación FAO | Lías | Soja |
|-------------------------|-------------------|------|------|
| Leucina                 | 7,0               | 6,2  | 3,3  |
| Fenilalanina + tirosina | 6,0               | 6,5  | 2,4  |
| Valina                  | 5,0               | 4,5  | 2,1  |
| Lisina                  | 5,5               | 4,5  | 3,1  |
| Isoleucina              | 4,0               | 3,5  | 2,1  |
| Treonina                | 4,0               | 6,5  | 2,0  |
| Metionina + cisteína    | 3,5               | 1,5  | 1,1  |
| Triptófano              | 1,0               | 1,8  | --   |



En la tabla anterior se pone de manifiesto que la composición relativa en aminoácidos de las lías de vinificación se ajusta mucho mejor a la composición considerada adecuada por la FAO que la composición encontrada en la soja, que es, actualmente, el principal origen de compuestos de tipo aminoácido y proteico entre los vegetales. Esta más adecuada composición debería ser aprovechada en la preparación de nutracéuticos, como alternativa a la clásica utilización de la soja.

De los estudios encontrados podemos concluir que las proteínas extraídas de la semilla y el hollejo de las uvas poseen buen valor nutricional son similares a las que poseen las proteínas de los cereales y de la soja, que se emplean como aditivos en la elaboración de determinados alimentos, por lo que podrían utilizarse en sustitución de éstas.

Estos compuestos son además especialmente interesantes en las lías, tanto en las de desfangado como en las de fermentación. En este último caso están formadas, principalmente, por restos de levadura muertas, tartratos y materiales de alto peso molecular presentes inicialmente en el mosto y que precipitan al aumentar el contenido de alcohol en el mismo. La principal utilización, en la actualidad, de este subproducto consiste en su destilación para la obtención de alcohol vínico. No obstante, el elevado contenido en tartratos y proteínas que presenta este material nos sugiere nuevas vertientes para su aprovechamiento que en la actualidad no están suficientemente explotadas.

En algunos estudios previos se han determinado los principales constituyentes del mismo. Se ha encontrado que la fibra alimentaria supone el 31 % de las lías, los azúcares y pigmentos constituyen el 13 %, las proteínas el 23 %, el ácido tartárico el 25%, la materia grasa es del orden de 6 % y las cenizas sólo un 0,5 %, medidos sobre peso seco. La cantidad de humedad y volátiles presentes en la muestra original resultó ser del 22 %. Estos porcentajes se refieren a lías de fermentación de vinos de la variedad Palomino Fino<sup>13</sup>.

---

<sup>13</sup> M.E. Gómez, J.M. Igartuburu, E. Pando, F. R. Luis, J. J. Infante, R. M. del Río. Comunicación personal.

De igual manera, también se encuentran proteínas tanto en las pepitas como en los hollejos de las uvas. En la tabla siguiente se muestran las concentraciones de diversos tipos de proteínas tanto en las pepitas como en los hollejos. Se puede observar que hay claras diferencias en cuanto a su composición, lo que unido a la diferente matriz en la que se encuentran requieren de diferentes procesos de extracción.

### **7.3 Hipótesis planteadas**

Se ha comprobado la presencia de compuestos con actividad beneficiosa para la salud humana en los residuos y subproductos del cultivo de la uva y del proceso de vinificación, concretamente compuestos de tipo fenólicos y restos proteicos.

La actividad biológica en el organismo humano se consigue mediante una ingesta o aplicación externa continuada de los compuestos beneficiosos, no sólo mediante la ingesta o aplicación puntual de los mismos.

El volumen y variedad de los residuos tanto de prácticas vitícolas como de prácticas tecnológicas se está incrementando como consecuencia de la aplicación de nuevas técnicas de elaboración de los vinos, fundamentalmente la introducción de vinos tintos en diversas zonas de Andalucía.

El incremento del valor de los subproductos o la puesta en valor de los residuos generados, generaría una fuente de ingreso extra para las industrias del sector vitivinícola, además de una nueva vía de negocio para empresas del sector alimentario, por la preparación de nutraceuticos y nuevos alimentos funcionales, como para empresas del sector cosmético, por la disponibilidad de extractos adecuados para la preparación de cosméticos enriquecidos en este tipo de compuestos.

Los niveles de los compuestos de interés en los orujos y otros residuos permiten plantear la posibilidad de procesos de recuperación empleando sistemas de extracción asistida por diversas formas de energía: ultrasonidos, microondas, presión/temperatura y su utilización en la elaboración de alimentos funcionales.

#### **7.4 Plan de trabajo**

- Utilización de las muestras relacionadas en el apartado siguiente en la elaboración de:
  - Mermeladas
  - Galletas y pastas con incorporación de mermeladas
  - Vinagretas y otras salsas
  - Bombones
- Determinación de compuestos fenólicos totales e individuales en las muestras, así como en materias primas utilizadas en su elaboración
- Determinación de aminoácidos tanto en las muestras finales como en las materias primas utilizadas
- Determinación de poder antioxidante en las muestras y en el material de partida
- Determinación de la estabilidad de compuestos fenólicos, poder antioxidante y aminoácidos en los alimentos elaborados frente a
  - Condiciones de oxidación
  - Condiciones de alta intensidad lumínica
  - Condiciones de alta/reducida humedad
  - Diferentes sistemas de envasado

- En los dos casos anteriores, será necesario adaptar los métodos de extracción y determinación de componentes fenólicos y de aminoácidos. Para ellos se emplearán las técnicas analíticas
  - Extracción asistida por ultrasonidos
  - Extracción asistida por microondas
  - Extracción asistida por líquidos presurizados
  - Cromatografía de líquidos de alta resolución, tanto HPLC como UPLC
  
- Realización de catas en paneles de personal entrenado para evaluar los efectos de la introducción de los nuevos componentes en los alimentos
  
- Muestras a utilizar
  - Restos del aclareo de racimos de las variedades tintas y blancas
  - Restos de elaboración de vinos, incluyendo los procesos de desfangado, delestages y prensado